

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN  
METANOL BUAH LEUNCA (*Solanum nigrum* L.) HASIL MASERASI  
BERTINGKAT TERHADAP SEL MCF-7**



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada Jurusan  
Farmasi Fakultas Farmasi**

**Oleh:**

**ZULFA ASIFA RAHMANIAH**

**K 100 150 105**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
2019**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN  
METANOL BUAH LEUNCA (*Solanum nigrum* L.) HASIL MASERASI  
BERTINGKAT TERHADAP SEL MCF-7**

**PUBLIKASI ILMIAH**

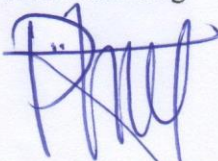
oleh:

**ZULFA ASIFA RAHMANIAH**

**K 100 150 105**

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



**Ratna Yuliani, S.Si., M.Biotech.St**

**NIK. 957**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN  
METANOL BUAH LEUNCA (*Solanum nigrum* L.) HASIL MASERASI  
BERTINGKAT TERHADAP SEL MCF-7**

**OLEH**

**ZULFA ASIFA RAHMANIAH**

**K 100 150 105**

**Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji  
Fakultas Farmasi  
Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Pada hari Rabu, 15 Mei 2019  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

**Dewan Penguji:**

- 1. Azis Saifudin, Ph.D., Apt.**  
**(Ketua Dewan Penguji)**
- 2. Maryati, Ph.D., Apt.**  
**(Anggota I Dewan Penguji)**
- 3. Ratna Yuliani, S.Si., M.Biotech.St.**  
**(Anggota II Dewan Penguji)**

(.....)  
(.....)  
(.....)



**Dekan,**

**Azis Saifudin, Ph.D., Apt.**

**NIK. 956**



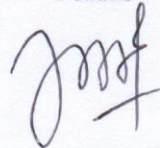
## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 06 April 2019

Penulis



**ZULFA ASIFA RAHMANIAH**

**K 100 150 105**

# AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN METANOL BUAH LEUNCA (*Solanum nigrum* L.) HASIL MASERASI BERTINGKAT TERHADAP SEL MCF-7

## Abstrak

Kanker payudara memiliki prevalensi kejadian yang tinggi pada masyarakat Indonesia, terutama wanita. Berbagai pengobatan kanker seperti kemoterapi, radiasi, dan pembedahan sering kali memiliki keterbatasan seperti biaya yang tinggi dan efek samping yang merugikan. Leunca (*Solanum nigrum* L.) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antitumor, antikanker, dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antikanker ekstrak heksana, etil asetat, dan metanol buah leunca hasil maserasi bertingkat terhadap sel MCF-7 beserta kandungan senyawa pada ekstrak yang memiliki aktivitas sitotoksik tertinggi. Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT. Analisis golongan senyawa dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis dengan fase diam lempeng silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak campuran kloroform:metanol (14:6) yang ditambahkan 50 µL akuades. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak metanol buah leunca dapat menghambat pertumbuhan sel MCF-7 dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 211,046 µg/mL, sedangkan ekstrak heksana dan ekstrak etil asetat tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7. Doksorubisin memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 0,345 µg/mL. Hasil KLT menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah leunca mengandung golongan senyawa alkaloid, fenolik, dan flavonoid. Berdasarkan nilai IC<sub>50</sub>, ekstrak heksana, etil asetat, dan metanol buah leunca tidak memiliki aktivitas sitotoksik yang potensial untuk dikembangkan sebagai obat kanker.

**Kata Kunci:** MCF-7, MTT, KLT, *solanum nigrum* L.

## Abstract

Breast cancer has a high prevalence of occurrence in Indonesian society, mainly women. Cancer treatments such as chemotherapy, radiation, surgery often has limitations such as high costs and side effects. Leunca (*Solanum nigrum* L.) is one of the plants that has the potential as an antitumor, anticancer, and antioxidant. This study aims to determine anticancer activity of hexane, ethyl acetate, and methanol extracts of leunca fruit from stratified maceration against MCF-7 cells and identify the compounds in the extract, which has the highest cytotoxic activity. The cytotoxic test was carried out by MTT method. Identification of chemical compounds in the extract was done by thin layer chromatography method, using the GF<sub>254</sub> silica plate as the stationary phase and the mixture of chloroform: methanol (14: 6) which was added 50 µL of aquades as the mobile phase. The results showed that methanol extracts of leunca fruit inhibit the growth of MCF-7 cells with IC<sub>50</sub> values of 211,046 µg/mL, whereas hexane extract and ethyl acetate extract had no cytotoxic activity againts MCF-7 cells. Doxorubicin had cytotoxic activity againts MCF-7 cells with IC<sub>50</sub> values of 0,345 µg/mL. The TLC results showed that the methanol extract of leunca fruit contains alkaloid, phenolic, and flavonoid compounds. Based on IC<sub>50</sub> values, hexane, ethyl acetate, and methanol extract of leunca fruit did not has potential cytotoxic activity to be developed as a cancer drug.

**Keywords:** MCF-7, MTT, TLC, *solanum nigrum* L.

## 1. PENDAHULUAN

Kanker atau tumor ganas merupakan pertumbuhan sel atau jaringan yang tidak terkontrol, terus bertumbuh, dan dapat menyusup ke jaringan sekitar untuk membentuk metastasis. Prevalensi nasional penyakit kanker pada penduduk semua umur di tahun 2013 sebesar 1,4% atau diperkirakan sekitar 347.792 orang (Balitbangkes Depkes RI, 2013). Prevalensi kanker berdasarkan diagnosis dokter dalam riskesdas tahun 2018 di Indonesia sebesar 1,8%. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan dibandingkan persentase prevalensi di tahun 2013 (Balitbangkes RI, 2018). Munculnya kasus kanker payudara baru pada semua umur dan semua jenis kelamin di Indonesia tahun 2018 menempati posisi pertama dengan persentase sebesar 16,7%. Kematian yang disebabkan oleh kanker payudara di Indonesia tahun 2018 menempati posisi kedua setelah kanker paru-paru dengan angka kejadian sebesar 22.692 dari 207.210 kematian (International Agency for Research on Cancer, 2019).

Berbagai obat yang sering digunakan untuk terapi kanker seperti obat-obatan kemoterapi, sering kali memiliki kelemahan biaya yang tinggi dan efek samping yang merugikan (Shabana *et al.*, 2013). Jenis tatalaksana kemoterapi pada penduduk (semua umur) yang didiagnosis kanker oleh dokter menempati posisi kedua setelah pembedahan dengan persentase sebesar 24,9% (Balitbangkes RI, 2018). Keterbatasan keberhasilan terapi klinis seperti radiasi, kemoterapi, imunomodulasi, dan pembedahan menunjukkan adanya urgensi pengembangan manajemen penanganan kanker (Mehta *et al.*, 2010). Leunca (*Solanum nigrum* L.) merupakan salah satu tanaman yang memiliki banyak manfaat di dunia medis, diantaranya berpotensi sebagai antitumor, antikanker, hepatoprotektif, larvisidal, antioksidan, dan antifungi (Miraj, 2016). Buah leunca mengandung senyawa fenolik, alkaloid, flavonoid, dan steroid (Kumar *et al.*, 2016). Glikoalkaloid steroid lebih banyak terdapat pada buah leunca yang masih muda (hijau) daripada yang telah matang (El-Hawary *et al.*, 2015).

Berbagai penelitian aktivitas antikanker buah leunca telah diteliti sebelumnya. Hu *et al.* (1999) mengemukakan bahwa leunca mengandung glikosida steroid  $\beta$ 2-solamargin, solamargin, dan degalaktotigonin yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap 6 sel tumor manusia yakni HT-29, HCT-15, PC-3, T47D, dan MDA-MB-231. Ekstrak etanol buah leunca hijau berpotensi sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan  $IC_{50}$  sebesar  $12,7 \pm 3,64 \mu\text{g/mL}$  (El-Hawary *et al.*, 2015). Fraksi kloroform dari ekstrak metanol buah leunca memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 dan MDA-MB-231 dengan nilai  $IC_{50}$  masing-masing sebesar  $37,5 \pm 2,5 \mu\text{g/mL}$  dan  $35,5 \pm 1,5 \mu\text{g/mL}$  setelah inkubasi selama 48 jam (Khan *et al.*, 2016).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak heksana, etil asetat, dan metanol buah leunca hasil maserasi bertingkat terhadap sel MCF-7 beserta golongan senyawa yang ada dalam ekstrak yang memiliki aktivitas sitotoksik tertinggi.

## **2. METODE**

### **2.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain labu alas datar, kondensor alihn, almari pengering, kompresor, mikropipet (Socorex), lampu UV (Camac), oven (Binder), vortex (Maxi Mix II), sonikator (Branson 2510), *rotatory evaporator* (Heidolph), *stirring hot plates* (Cimarec Thermo Scientific), *waterbath* (Memmert), *counter*, inkubator CO<sub>2</sub> (Binder), hemositometer (Marienfield Germany), ELISA (*Enzyme Linked Immuno-sorbent Assay*) reader (BioTek ELx800), mikroskop (Olympus), dan *Laminar Air Flow* (LAF) (ESCO).

### **2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain buah leunca hijau yang diperoleh dari supermarket Superindo dan Assalam, akuades, heksana, etil asetat, metanol, alumunium foil, dimetil sulfoksida (DMSO), *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM), sel MCF-7, doksorubisin (PT Dankos Farma), penisilin-streptomisin, *Fetal Bovine Serum* (FBS), *conical tube*, *microtube*, *blue tip*, *yellow tip*, *white tip*, natrium bikarbonat, natrium hidroksida, *Phosphate Buffer Saline* (PBS), tripsin-EDTA, DMSO (Dimetil Sulfoksida), reagen MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) (50 mg MTT dan 10 mL PBS), reagen *stopper* (Sodium Dodesil Sulfat (SDS) 10% dalam 0,1 N HCl), filter 0,2 mikron, *96-well plate*, lempeng silika GF<sub>254</sub>, kertas saring, reagen FeCl<sub>3</sub>, reagen Dragendorff, reagen sitroborat, dan reagen Liebermann-Burchard (LB).

### **2.3 Ekstraksi Buah Leunca**

Buah leunca hijau sebanyak 3 kg dicuci dan dipotong menjadi 2 bagian, kemudian dikeringkan menggunakan almari pengering pada suhu 40°C selama 24 jam. Buah leunca yang sudah kering kemudian ditimbang dan dihaluskan menggunakan blender. Serbuk buah leunca diekstraksi menggunakan metode yang diadaptasi dari Saifudin (2014), yakni maserasi bertingkat kombinasi digesti dan refluks. Sebanyak 100 gram serbuk buah leunca dimasukkan ke dalam labu alas datar kapasitas 1 L, dimaserasi dengan 500 mL heksana selama 1 jam pada suhu 40°C dengan kecepatan pengadukan sebesar 350 rpm, kemudian disaring dan hasil maserat ditampung dalam botol kaca. Penyaringan dilakukan dengan bantuan corong Buchner yang berisi 2 lembar kertas saring dan kompresor. Maserasi dengan pelarut heksana dilakukan sebanyak 6 kali, kemudian dilanjutkan dengan pelarut etil asetat. Serbuk simplisia awal dimaserasi kembali dengan pelarut etil asetat

sebanyak 500 mL selama 1 jam pada suhu 40°C dengan kecepatan pengadukan sebesar 350 rpm, kemudian disaring dan hasil maserat ditampung dalam botol kaca. Maserasi dengan pelarut etil asetat dilakukan sebanyak 4 kali, kemudian dilanjutkan dengan pelarut metanol. Serbuk simplisia yang telah dimaserasi dengan pelarut heksana dan etil asetat dimaserasi kembali dengan pelarut metanol sebanyak 500 mL selama 1 jam pada suhu 40°C dengan kecepatan pengadukan sebesar 350 rpm, kemudian disaring dan hasil maserat ditampung dalam botol kaca. Maserasi dengan pelarut metanol dilakukan sebanyak 3 kali. Maserat dari ketiga pelarut masing-masing dikentalkan menggunakan *rotatory evaporator* pada suhu 60°C, dilanjutkan dengan *waterbath* pada suhu 50°C.

## **2.4 Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Buah Leunca**

Prosedur pengujian aktivitas sitotoksik dilakukan dengan metode MTT. Pemanenan sel dilakukan setelah kondisi sel dalam cawan petri 80% konfluen. Media dalam cawan petri berisi sel dibuang menggunakan pipet Pasteur, sel dicuci dengan 5 mL PBS (setengah dari volume media awal) sebanyak 2 kali kemudian PBS disedot menggunakan pipet Pasteur. Sebanyak 5 mL tripsin-EDTA (trypsin 0,25%) ditambahkan ke dalam cawan dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Lima milliliter media DMEM ditambahkan untuk menginaktifkan tripsin. Sel diresuspensi beberapa kali hingga terlepas satu per satu. Sebanyak 10 µL sel diletakkan pada hemositometer untuk dihitung di bawah mikroskop dengan bantuan *counter*. Sel hasil panen diambil sesuai dengan kebutuhan kemudian sel dipindahkan ke *conical tube* steril dan diencerkan dengan media DMEM. Sebanyak 100 µL sel ditransfer ke tiap sumuran dalam 96-well plate (kepadatan sel  $1 \times 10^4$  sel/mL) dan diinkubasi selama 24 jam untuk beradaptasi dan kembali melekat (Cancer Chemoprevention Research Center, 2013).

Seri konsentrasi ekstrak heksana, etil asetat, ataupun metanol yang digunakan dalam penelitian ini sebesar 50, 100, 200, 400, dan 800 µg/mL. Seri konsentrasi kontrol positif doksorubisin yang digunakan sebesar 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625 µg/mL. Setelah sel pada 96-well plate diinkubasi semalam, media dalam sumuran dibuang, tiap sumuran ditambahkan ekstrak, doksorubisin, dan kontrol pelarut (DMSO 0,8%) sesuai tata letak yang telah direncanakan kemudian 96-well plate diinkubasi selama 48 jam. Setelah inkubasi, media dalam 96-well plate kembali dibuang, tiap sumuran diberi reagen MTT (0,5 mg/mL) sebanyak 100 µL, lalu diinkubasi selama 2 jam dalam inkubator CO<sub>2</sub>, kemudian diberi reagen *stopper* (SDS 10% dalam 0,1 N HCl) dan diinkubasi pada ruang gelap selama 24 jam. Absorbansi sel diukur menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 550 nm. Hasil pembacaan ELISA reader digunakan untuk menghitung persentase sel hidup dan menentukan nilai IC<sub>50</sub>. Kondisi sel diamati menggunakan mikroskop *inverted* dan didokumentasikan untuk setiap perlakuannya.



Data absorbansi hasil pembacaan ELISA *reader* dari masing-masing ekstrak digunakan untuk menghitung persentase sel hidup dan menentukan nilai IC<sub>50</sub>. Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak heksana, etil asetat, dan metanol buah leunca terhadap sel MCF-7 ditentukan dari antilog nilai x yang didapatkan pada persamaan dari hasil regresi linear log konsentrasi versus persentase sel hidup. Data absorbansi kontrol pelarut lebih rendah dari absorbansi kontrol sel sehingga persentase sel hidup dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{(\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media})}{(\text{absorbansi kontrol pelarut} - \text{absorbansi kontrol media})} \times 100\% \quad (1)$$

## 2.5 Analisis Kandungan Senyawa Ekstrak Metanol Buah Leunca

Analisis golongan senyawa dalam ekstrak buah leunca yang memiliki aktivitas sitotoksik tertinggi dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Lempeng silika gel berukuran 10x1 cm diaktivasi pada suhu 100°C selama 5 menit. Seratus miligram ekstrak metanol buah leunca dilarutkan di dalam 1 mL metanol (larutan sampel). Larutan sampel ditotolkan sebanyak 3 kali di atas lempeng silika GF<sub>254</sub> pada batas bawah yang berjarak 1 cm dari dasar lempeng. Lempeng silika dielusi menggunakan fase gerak hasil optimasi kombinasi kloroform:metanol (14:6) yang ditambah 50 µL akuades hingga mencapai batas atas yang berjarak 1 cm dari bagian atas lempeng. Setelah elusi selesai, nilai R<sub>f</sub> dari bercak yang muncul pada lempeng KLT dihitung. Plat KLT disemprot dengan reagen semprot Dragendorff, sitroborat, FeCl<sub>3</sub>, dan Liebermann-Burchard. Pengamatan plat KLT dilakukan pada sinar tampak, di bawah sinar UV<sub>254</sub> nm, dan UV<sub>366</sub> nm.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

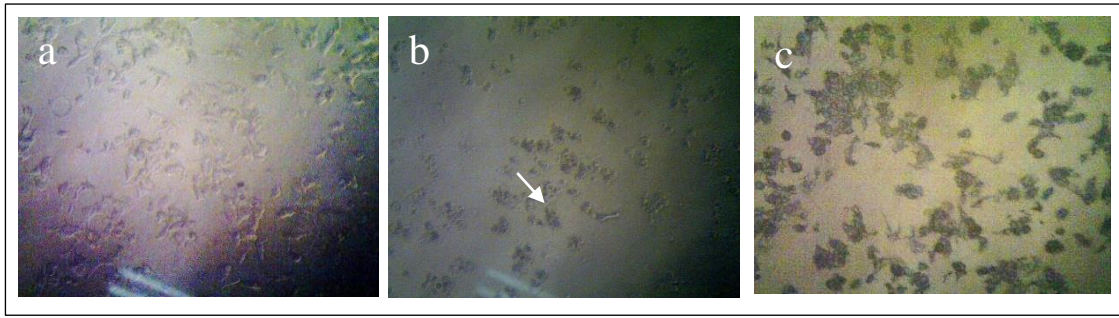
### 3.1 Ekstraksi Buah Leunca

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yakni maserasi bertingkat menggunakan urutan pelarut heksana, etil asetat, kemudian metanol. Penempatan urutan pelarut heksana-etil asetat-metanol dalam maserasi bertingkat ini bertujuan agar senyawa yang terkandung di dalam buah leunca dapat tersari sesuai kepolarannya, yakni ekstrak heksana mengandung senyawa non polar, ekstrak etil asetat mengandung senyawa semi polar, dan ekstrak metanol mengandung senyawa sisa yang bersifat polar. Penggunaan 100 gram simplisia pada awal proses maserasi bertingkat menghasilkan rendemen heksana sebesar 3,89%, rendemen etil asetat sebesar 1,95%, dan rendemen metanol sebesar 12,88%. Dari hasil rendemen yang didapatkan, dapat disimpulkan bahwa buah leunca mengandung lebih banyak senyawa polar dibandingkan senyawa non polar dan senyawa semi polar.

### 3.2 Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Buah Leunca

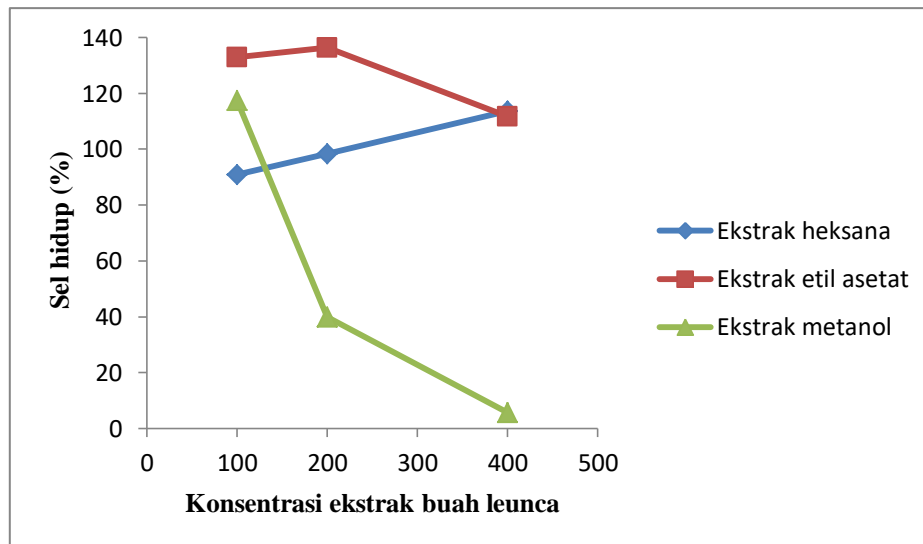
Metode MTT memiliki prinsip reduksi MTT (berwarna kuning) menjadi formazan (berwarna ungu) dengan bantuan NADPH dan enzim yang dihasilkan oleh mitokondria seperti oksidoreduktase. MTT bersifat lipofilik sehingga dapat menembus membran sel. Kristal formazan merupakan produk yang tidak larut air sehingga perlu dilarutkan terlebih dahulu sebelum ditentukan kadarnya secara kolorimetrik. Semakin pekat intensitas warna ungu yang dihasilkan dari pengujian metode MTT maka semakin banyak sel yang hidup (Morgan, 1998; Gilbert and Friedrich, 2017). Pemberian SDS 10% dalam HCl 0,1 N bertujuan untuk menghentikan reaksi pembentukan kristal formazan dan melarutkan kristal yang telah terbentuk (Septisetyani *et al.*, 2014). *Inhibitory concentration 50* (IC<sub>50</sub>) merupakan parameter untuk mengetahui konsentrasi dari suatu ekstrak atau senyawa yang dapat menyebabkan penghambatan 50% populasi sel hidup. Menurut *National Cancer Institute* (NCI) suatu ekstrak dianggap memiliki aktivitas sitotoksik potensial apabila memiliki nilai IC<sub>50</sub> < 20 µg/mL (Vijayarathna and Sasidharan, 2012).

Pengamatan sel dilakukan dengan bantuan *inverted microscope* dan visualisasi melalui kamera opti lab (Gambar 1). Sel MCF-7 merupakan sel non-mutan P53 yang cenderung tidak invasif dan tidak mudah bermigrasi karena rendahnya level *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang diekspresikan (Comşa *et al.*, 2015). MCF-7 memiliki morfologi bulat dan membentuk massa seperti batu besar, serta selnya tersusun rapat dengan struktur kohesif yang menggambarkan sel-sel adhesi yang kokoh (Kenny *et al.*, 2007). Gambar 1a menunjukkan morfologi pada sel MCF-7 berbentuk bulat sampai oval, membentuk massa bergerombol, dan tidak berwarna. Sebagian besar sel MCF-7 yang diberi perlakuan dengan ekstrak metanol konsentrasi 200 µg/mL memiliki bentuk sel bulat, ukuran lebih kecil, inti sel berwarna hitam, dan sel sudah tidak melekat pada dasar plat (Gambar 1b). Morfologi sel pada perlakuan menggunakan doksorubisin konsentrasi 0,5 µg/mL mengalami perubahan yang sama dengan perlakuan ekstrak metanol konsentrasi 200 µg/mL. Hal ini menandakan sel-sel tersebut sudah mati. Pemberian ekstrak metanol konsentrasi 200 µg/mL dan doksorubisin konsentrasi 0,5 µg/mL memberikan penghambatan terhadap pertumbuhan sel kanker. Sel yang diberi perlakuan dengan ekstrak etil asetat dan heksana dengan konsentrasi 800 µg/mL memiliki sel dengan inti berwarna hitam yang lebih sedikit. Hal ini menandakan jumlah sel yang mengalami kematian lebih sedikit daripada sel yang masih hidup. Semakin banyaknya sel hidup maka semakin banyak pula kristal formazan yang terbentuk, kristal ini berwarna ungu gelap dengan sisi-sisi yang runcing (Gambar 1c).



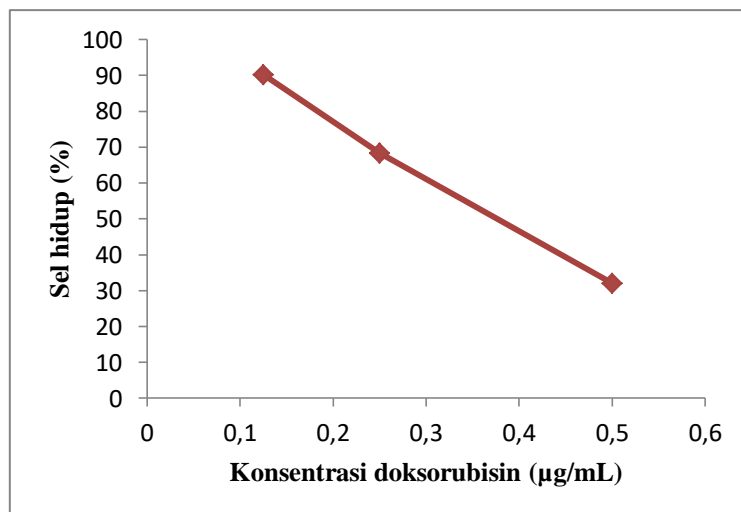
Gambar 1. Gambar morfologi sel MCF-7. Morfologi sel MCF-7 pada kontrol sel (a), sel MCF-7 setelah diberi perlakuan ekstrak metanol 200 µg/mL (b), pembentukan kristal formazan oleh sel MCF-7 setelah diberi reagen MTT (c)

Hasil pembacaan absorbansi 96-well plate menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 550 nm digunakan untuk menghitung perentase sel hidup dan nilai  $IC_{50}$ . Konsentrasi ekstrak heksana buah leunca yang digunakan dalam pengujian sitotoksik berbanding lurus dengan persentase sel hidup yang dihasilkan. Semakin besar konsentrasi ekstrak heksana buah leunca yang digunakan, maka semakin besar persentase sel hidup rata-rata yang dihasilkan. Persentase sel hidup rata-rata yang dihasilkan untuk konsentrasi terkecil (100 µg/mL) sebesar 90,881% dan untuk konsentrasi terbesar (400 µg/mL) sebesar 113,716%. Persentase sel hidup rata-rata perlakuan ekstrak heksana tidak dapat melewati 50%, sehingga perhitungan  $IC_{50}$  tidak dapat dilakukan dan ekstrak heksana tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 (Gambar 2). Kenaikan ataupun penurunan persentase sel hidup rata-rata ekstrak etil asetat tidak tergantung pada konsentrasi ekstrak yang digunakan. Persentase sel hidup rata-rata perlakuan ekstrak etil asetat pun tidak dapat melewati 50%, sehingga perhitungan  $IC_{50}$  tidak dapat dilakukan dan ekstrak etil asetat tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 (Gambar 2). Konsentrasi ekstrak metanol buah leunca yang digunakan dalam pengujian sitotoksik berbanding terbalik dengan persentase sel hidup yang dihasilkan. Perlakuan ekstrak metanol buah leunca menghasilkan persentase sel hidup rata-rata yang dapat melewati 50%, sehingga dapat dilakukan perhitungan  $IC_{50}$ . Ekstrak metanol buah leunca memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 211,046 µg/mL (Gambar 2). Berdasarkan hasil uji sitotoksik, ekstrak metanol buah leunca menghasilkan aktivitas sitotoksik tertinggi dibandingkan ekstrak heksana ataupun ekstrak etil asetat buah leunca.



Gambar 2. Pengaruh pemberian ekstrak heksana, etil asetat, dan metanol buah leunca terhadap persentase rata-rata sel MCF-7 hidup

Kontrol positif yang dipakai dalam penelitian ini yakni doksorubisin. Doksorubisin memiliki dua mekanisme aksi sitotoksik. Mekanisme yang pertama yakni interkalasi dengan DNA sehingga menyebabkan gangguan pada topoisomerase-II. Topoisomerase-II berguna untuk memediasi perbaikan DNA sel kanker. Mekanisme yang kedua yakni doksorubisin memproduksi *reactive oxygen spesies* (ROS) yang dapat menyebabkan kerusakan membran, DNA, dan protein sehingga memicu jalur apoptosis sel (Thorn *et al.*, 2011). Terapi doksorubisin jangka panjang dapat menginduksi ekspresi P-glikoprotein (Pgp) dalam jumlah yang tinggi pada sel kanker tersebut. Paparan doksorubisin 0,5 μg/mL selama 1 minggu pada sel MCF-7 menyebabkan perubahan ekspresi P-gp dan perubahan morfologi sel seperti adanya lamellapodia dan filopodia. Overekspresi Pgp dapat menyebabkan sel efluks (via hidrolisis ATP) terhadap agen kemoterapi sehingga menurunkan efek terapi (Rumiyati *et al.*, 2018; Putri *et al.*, 2011). Namun, resistensi sel MCF-7 terhadap doksorubisin tergantung pada besaran dosis dan frekuensi paparan doksorubisin. Hal ini yang menjadi alasan pemilihan doksorubisin sebagai kontrol positif pada sel MCF-7 sensitif. Pada penelitian sebelumnya, nilai  $IC_{50}$  doksorubisin terhadap sel MCF-7 sensitif yakni 0,217 μg/mL, sedangkan nilai  $IC_{50}$  terhadap sel MCF-7 resisten hampir 2 kali lipatnya yakni 0,380 μg/mL (Putri *et al.*, 2011). Barzegar (2014) memaparkan hasil pengujian aktivitas sitotoksik doksorubisin terhadap sel MCF-7 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 0,271 μg/mL. Pada penelitian ini, semakin besar konsentrasi doksorubisin yang digunakan, semakin kecil persentase sel hidup yang dihasilkan (Gambar 3). Doksorubisin memiliki aktivitas sitotoksik yang poten terhadap sel MCF-7 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 0,371 μg/mL.



Gambar 3. Pengaruh pemberian doksorubisin terhadap persentase rata-rata sel MCF-7 hidup

Beberapa kandungan senyawa di dalam buah leunca memiliki aktivitas sebagai antikanker. Glikoalkaloid steroid merupakan salah satu golongan senyawa yang berperan penting dalam aktivitas antikanker. Total alkaloid hasil isolasi dari *S. nigrum* mengganggu fungsi dan struktur membran sel tumor, sedangkan glikoprotein hasil isolasi dari tanaman tersebut memiliki aktivitas antikanker melalui jalur apoptosis dari NF-kappaB via aktivasi reaksi kaskade caspase dan peningkatan produksi nitrit oksida (An *et al.*, 2006). Solamargin dapat menginduksi apoptosis pada sel kanker payudara dengan meningkatkan regulasi ekspresi reseptor kematian eksternal, seperti TNFR-I, reseptor Fas, *TNFR-I-associated death domain* (TRADD), dan *Fas-associated death domain* (FADD). Solamargin juga meningkatkan rasio intrinsik dari Bax dan Bcl-2 dengan cara meningkatkan regulasi Bax dan menurunkan regulasi Bcl-2 dan Bcl-xL (Shiu *et al.*, 2007). Isolat glikoprotein buah leunca (150 kDa) memiliki aktivitas induksi produksi nitrit oksida yang lebih baik daripada isolat glikoprotein dari daun dan batang leunca (210 kDa). Isolat glikoprotein dari buah leunca memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 melalui mekanisme stimulasi sitokin interferon gamma (INF- $\gamma$ ) dan *Tumor Necrosis Factor* alfa (TNF- $\alpha$ ). Kedua sitokin ini merupakan ko-stimulator yang menginduksi nitrit oksida serta membuat sel menjadi mati. Sitokin INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , interleukin-2 (IL-2), interleukin-4 (IL-4), dan interleukin-12 (IL-12) sering dikenal sebagai sitokin sitotoksik dan menginduksi apoptosis pada berbagai jenis sel tumor (Lee and Lim, 2003). Aktivitas yang dihasilkan oleh ekstrak tentu saja berbeda daripada aktivitas yang dihasilkan oleh isolat. Glikoprotein yang diisolasi dari buah leunca dengan berat molekul sebesar 150 kDa memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 dengan IC<sub>50</sub> sebesar 29,93 µg/mL (Lee and Lim, 2003). Isolat solamargin memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dan MDA-MB 231 dengan nilai IC<sub>50</sub> masing-masing sebesar 1,649 dan 1,302 µg/mL (Hu *et al.*, 1999). Dalam



penelitian ini, nilai  $IC_{50}$  yang didapatkan masih cukup tinggi sehingga tidak dapat dikatakan poten. Kandungan golongan senyawa yang diperkirakan beraktivitas sitotoksik pada suatu ekstrak tidak diperkirakan jumlahnya secara kuantitatif, apabila kandungannya terlalu sedikit maka aktivitas yang ditimbulkan pun tidak optimal. Hal ini lah yang membedakan dengan aktivitas yang dihasilkan oleh isolat bagian tanaman.

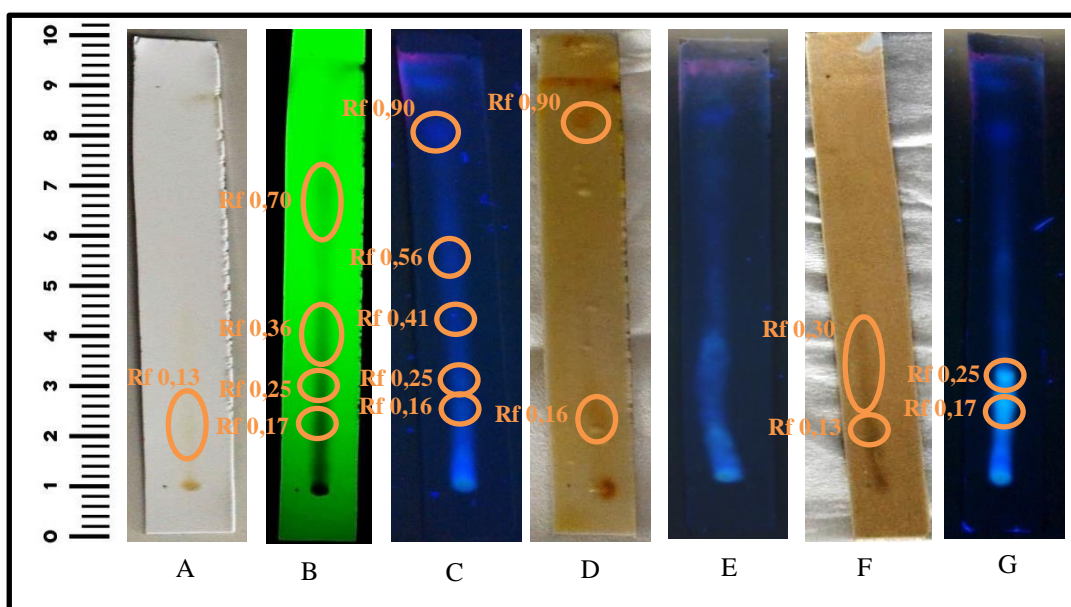
### 3.3 Analisis Kandungan Senyawa Ekstrak Metanol Buah Leunca

Buah leunca hijau mengandung glikosida steroid, desgalaktotigonin, tigogenin (steroid sapogenin jenuh), galaktopiranosid, serta alkaloid steroid berupa solamargin dan solasonin (Lim, 2013). Dalam tanaman leunca ditemukan kandungan glikoalkaloid steroid  $\alpha$ -solamargin 5,03 mg/g, solasonin 5,8 mg/g,  $\alpha$ -solanin 4,7 mg/g,  $\beta$ -solamargin 1,69 mg/g dan aglikon alkaloidsteroid yakni solanidin 16,03% dan solasodin 75,89% (Mohy-Ud-Din *et al.*, 2010). Senyawa bioaktif (metabolit sekunder) dalam tanaman leunca seperti glikoalkaloid (solamargin, solasonin, dan solanin), dan polifenol (asam galat, rutin, naringenin) bersifat relatif polar. Penggunaan pelarut polar seperti metanol dan etanol dianggap cocok untuk mengekstraksi senyawa-senyawa tersebut (Arullappan *et al.*, 2015).

Identifikasi golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol dilakukan secara kualitatif dengan bantuan reagen semprot. Reagen Dragendorff merupakan salah satu reagen yang digunakan untuk mendeteksi alkaloid dengan parameter positif berupa timbulnya bercak berwarna coklat atau jingga kecoklatan pada sinar tampak. Apabila diperlukan, dapat dilakukan pemberian reagen semprot  $NaNO_2$  sehingga dihasilkan warna coklat tua yang lebih intensif (Wagner and Bladt, 1996). Gambar 4D menunjukkan hasil yang positif terhadap reagen semprot Dragendorff +  $NaNO_2$  yang ditandai dengan timbulnya 2 spot warna coklat pada lempeng silika. Hal ini menandakan ekstrak metanol buah leunca mengandung senyawa golongan alkaloid. Reagen Liebermann-Burchard (LB) digunakan untuk mendeteksi senyawa saponin atau steroid dengan parameter positif berupa timbulnya bercak berwarna biru atau hijau di bawah lampu UV 366 nm (Farnsworth, 1966). Gambar 4E menunjukkan hasil negatif pada lempeng yang disemprot dengan reagen LB, tidak ada perubahan intensitas warna fluoresensi menjadi biru atau hijau. Hal ini menandakan ekstrak metanol buah leunca tidak mengandung senyawa golongan steroid. Reagen  $FeCl_3$  digunakan untuk mendeteksi senyawa fenolik dengan parameter positif berupa timbulnya warna abu-abu gelap atau biru (pada senyawa kumarin) pada sinar tampak dan pemadaman pada UV 254 nm (Saifudin, 2014). Gambar 4F menunjukkan hasil yang positif terhadap penyemprotan lempeng hasil elusi dengan reagen  $FeCl_3$  yang ditandai dengan adanya spot berwarna abu-abu. Hal ini menandakan ekstrak metanol buah leunca mengandung golongan senyawa fenolik. Reagen sitroborat digunakan untuk mendeteksi senyawa flavonoid. Flavonoid menyebabkan pemadaman fluoresensi pada UV 254 nm,

dan berfluoresensi pada UV 366 nm menghasilkan warna hijau, biru kuning, dan bercak glikosida flavonoid yang khas berfluoresensi ungu (Mabry *et al.*, 1970). Gambar 4G menunjukkan hasil yang positif terhadap penyemprotan lempeng hasil elusi dengan reagen sitroborat, karena terjadi perubahan warna spot pada lempeng yang semula biru menjadi hijau. Hal ini menandakan ekstrak metanol buah leunca mengandung golongan senyawa flavonoid.

Beberapa penelitian skrining fitokimia telah dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa di dalam leunca. Ekstrak metanol biji buah leunca mengandung golongan senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, dan steroid (Sridhar *et al.*, 2011). Ekstrak etanol buah leunca mengandung tanin, alkaloid, steroid, flavonoid, dan glikosida (Kumar *et al.*, 2016). Dalam penelitian ini terdapat ketidaksesuaian pada kandungan steroid dan glikosida buah leunca. Steroid merupakan golongan lipid yang tersusun dari isopren yang dibentuk oleh rantai karbon panjang sehingga steroid cenderung bersifat non polar (Handoko, 2016). Hasil negatif pada deteksi steroid ini dapat disebabkan karena sifat steroid yang non polar, sehingga tidak dapat tersari ke dalam ekstrak metanol buah leunca hasil maserasi bertingkat. Dalam penelitian ini tidak dilakukan pengujian senyawa glikosida, sehingga kandungan gula dalam ekstrak metanol buah leunca tidak dapat diidentifikasi. Dari hasil analisis KLT, ekstrak metanol mengandung golongan senyawa alkaloid, fenolik, dan flavonoid (Tabel 1).



Gambar 4. Hasil KLT ekstrak metanol buah leunca dengan fase diam lempeng silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak campuran kloroform:metanol (14:6) yang ditambahkan 50  $\mu$ L akuades. Hasil KLT sebelum disemprot reagen pada sinar tampak (A), UV<sub>254</sub> nm (B), UV<sub>366</sub> nm (C), setelah disemprot dengan reagen Dragendorff dan NaNO<sub>2</sub> (D), reagen Liebermann-Burchard (LB) (E), reagen FeCl<sub>3</sub> (F), dan reagen sitroborat (G)

Tabel 1. Data hasil analisis golongan senyawa ekstrak metanol buah leunca menggunakan KLT

Rf	Sinar tampak	UV <sub>254</sub>	UV <sub>366</sub>	Reagen semprot				Kandungan senyawa
				Dragendorff	LB	FeCl <sub>3</sub>	Sitroborat	
				Sinar tampak	UV <sub>366</sub>	Sinar tampak	UV <sub>366</sub>	
0,13	Kuning	-	-	-	-	Abu-abu	-	Fenolik
0,16	-	-	Biru	Coklat	-	-	-	Alkaloid
0,17	-	Pemadaman	-	-	-	-	Hijau	Flavonoid
0,25	-	Pemadaman	Biru	-	-	-	Hijau	Flavonoid
0,30	-	-	-	-	-	Abu-abu	-	Fenolik
0,36	-	Pemadaman	-	-	-	-	-	-
0,41	-	-	Biru	-	-	-	-	-
0,56	-	-	Biru	-	-	-	-	-
0,70	-	Pemadaman	-	-	-	-	-	-
0,90	-	-	Biru	Coklat	-	-	-	Alkaloid

#### 4. PENUTUP

Ekstrak metanol memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 217,172 µg/mL, ekstrak etil asetat memiliki potensi aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 1127,005 µg/mL, dan ekstrak heksana tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7. Ekstrak metanol buah leunca mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, dan fenolik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- An L., Tang J., Liu X. and Gao N., 2006, Review about mechanisms of anti-cancer of *Solanum nigrum*, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 31 (15), 1225–6, 1260. Terdapat di: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17048560> [Diakses pada March 15, 2019].
- Arullappan S., Rajanickam P., Thevar N., Narayanasamy D., Yee H.Y., Kaur P. and Mahandan M., 2015, Cytotoxic Effect and Antioxidant Activity of Bioassay-guided Fractions Isolated from *Solanum nigrum* Extracts, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14 (July), 1199–1205.
- Balitbangkes Depkes RI, 2013, *Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas)*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Balitbangkes RI, 2018, *Hasil Utama Riskesdas 2018*, Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Barzegar E., Fouladdel S., Movahhed T.K., Ghahremani M.H., Ostad S.N. and Azizi E., 2014, Effects of Berberine on Proliferation, Cell Cycle Distribution and Apoptosis of Human Breast Cancer T47D and MCF7 Cell Lines, *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 18 (4), 334–342.

- Cancer Chemoprevention Research Center, 2013, *Protokol Uji Sitotoksik Metode MTT*, Yogyakarta.
- Comşa Ş., Cîmpean A.M. and Raica M., 2015, The Story of MCF-7 Breast Cancer Cell Line : 40 Years of Experience in Research, *Anticancer Research*, 3154, 3147–3154.
- El-hawary S.S., Mohammed R., Abouzid S.F., Mostafa E. and Sayed A.M., 2015, Cytotoxicity of *Solanum nigrum* L. Green Fruits on Breast (MCF-7) and Liver (HepG-2) Cancer Cell Lines, *The Pharma Innovation Journal*, 3 (11), 87–89.
- Farnsworth N.R., 1966, Biological and Phytochemical Screening of Plants, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55 (3), 225–276.
- Gilbert D.F. and Friedrich O., 2017, *Cell Viability Assays*, Humana Press, New York. Terdapat di: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-6960-9>.
- Handoko S., 2016, Pemisahan Senyawa Steroid Fraksi Petroleum Eter (Pe) Mikroalga *Chlorella sp.* dengan Metode Kromatografi Kolom Pembuatan Fasa Diam Cara Basah dan Kering, *Skripsi*, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Hu K., Kobayashi H., Dong A., Jing Y., Iwasaki S. and Yao X., 1999, Antineoplastic agents III: Steroidal Glycosides from *Solanum nigrum*, *Planta medica*, 65 (1), 35–8. Terdapat di: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10083842>.
- International Agency for Research on Cancer, 2019, *Indonesia Population Fact Sheets*, Lyon. Terdapat di: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheets.pdf> [Diakses pada 03 April 2019].
- Kenny P.A., Lee G.Y., Myers C.A., Neve R.M., Semeiks J.R., Spellman P.T., Lorenz K., Lee E.H., Barcellos-Hoff M.H., Petersen O.W., Gray J.W. and Bissell M.J., 2007, The Morphologies of Breast Cancer Cell Lines in Three-dimensional Assays Correlate with Their Profiles of Gene Expression, *Molecular Oncology*, 1 (1), 84–96.
- Khan H.J., Ahmad M.K., Rastogi N., Khan A.R., Mahdi A.A., Ansari J.A., Fatima N. and Satyanarayan G., 2016, Identification of Anticancer and Antioxidant Phytoconstituents from Identification of Anticancer and Antioxidant Phytoconstituents from Chloroform Fraction of *Solanum nigrum* L. Berries Using GC-MS/MS Analysis, *Indian Journal of Experimental Biology*, 54, 774–782.
- Kumar P., Kumar J., Kumar R. and Dubey R.C., 2016, Studies on Phytochemical Constituents and Antimicrobial Activities of Leaves, Fruits, and Stems of *Solanum nigrum* L., *Asian Journal of Plant Science and Research*, 6 (4), 57–68.
- Lee S.J. and Lim K.T., 2003, Antioxidative Effects of Glycoprotein Isolated from *Solanum nigrum* Linn on Oxygen Radicals and Its Cytotoxic Effects on the MCF-7 Cell, *Journal of Food Science*, 68 (2), 466–470.
- Lim T.K., 2013, *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*, Fruits, Springer Science+Business Media, New York.
- Mabry T.J., Markham K.R. and Thomas M.B., 1970, *The Systematic Identification of Flavonoids*, 1st Ed., Springer-Verlag, New York.
- Mehta R.G., Murillo G., Naithani R. and Peng X., 2010, Cancer Chemoprevention by Natural Products: How Far Have We Come?, *Pharmaceutical Research*, 27 (6), 950–961.
- Miraj S., 2016, *Solanum nigrum*: A Review Study with Anticancer and Antitumor Perspective, *Der Pharma Chemica*, 8 (17), 62–68.
- Mohy-Ud-Din A., Khan Z.U.D., Ahmad M. and Kashmiri M.A., 2010, Chemotaxonomic Value of

Alkaloids in *Solanum nigrum* Complex, *Pakistan Journal of Botany*, 42 (1), 653–660.

- Morgan D.M.L., 1998, Tetrazolium (MTT) Assay for Cellular Viability and Activity, *Polyamine Protocols*, 79 (4), 179–184.
- Putri D.D.P., Sarmoko S., Febriansah R. and Puspitasari E.T., 2011, MCF-7 Resistant Doxorubicin are Characterized by Lamellapodia, Strong MCF-7 Resistant Doxorubicin are Characterized by Lamellapodia, Strong Adhesion on Substrate and P-gp Overexpression, *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 2 (3), 304–309.
- Rumiyati R., Muna L.N., Hidayati D.N. and Jenie R.I., 2018, Acute Toxicity and Genotoxic Activity of Leunca (*Solanum nigrum* L.) Herb Ethanolic Extract, *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 6 (1), 30.
- Saifudin A., 2014, *Senyawa Alam Metabolit Sekunder*, Deepublish (CV Budi Utama), Yogyakarta.
- Septisetyani E.P., Ningrum R.A., Romadhani Y., Wisnuwardhani P.H. and Santoso A., 2014, Optimization of Sodium Dodecyl Sulphate As a Formazan Solvent and Comparison of 3-(4,5-Dimethylthiazo-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) Assay With WST-1 Assay in MCF-7 Cells, *Indonesian Journal of Pharmacy*, 25 (4), 245.
- Shabana M.M., Salama M.M., Ezzat S.M. and Ismail L.R., 2013, In Vitro and In Vivo Anticancer Activity of the Fruit Peels of *Solanum melongena* L. against Hepatocellular Carcinoma, *J Carcinogene Mutagene*, 04 (03), 1–6. Terdapat di: <http://www.omicsonline.org/in-vitro-and-in-vivo-anticancer-activity-of-the-fruit-peels-of-solanum-melongena-l-against-hepatocellular-carcinoma-2157-2518.1000149.php?aid=19499>.
- Shiu L.Y., Chang L.C., Liang C.H., Huang Y.S., Sheu H.M. and Kuo K.W., 2007, Solamargine Induces Apoptosis and Sensitizes Breast Cancer Cells to Cisplatin, *Food and Chemical Toxicology*, 45 (11), 2155–2164.
- Sridhar T.M., Josthna P. and Naidu C.V., 2011, Antifungal Activity, Phytochemical Analysis of *Solanum nigrum* (L.)-An Important Antiulcer Medicinal Plant, *Journal of Ecobiotechnology*, 3 (7), 11–15.
- Thorn C.F., Oshiro C., Marsh S., Hernandez-Boussard T., McLeod H., Klein T.E. and Altman R.B., 2011, Doxorubicin Pathways: Pharmacodynamics and Adverse Effects, *Pharmacogenet Genomics*, 21 (7), 440–446.
- Vijayarathna S. and Sasidharan S., 2012, Cytotoxicity of Methanol Extracts of *Elaeis guineensis* on MCF-7 and Vero Cell Lines, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2 (10), 826–829.
- Wagner H. and Bladt S., 1996, *Plant Drug Analysis*, 2nd Ed., Springer, Berlin. Terdapat di: <http://cad.sagepub.com/cgi/doi/10.1177/001112877201800405>.